

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2005 年 4 月 21 日 (21.04.2005)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2005/036178 A1

(51) 国際特許分類<sup>7</sup>: G01N 33/68,  
33/483, 33/84, C12N 15/11, 1/15, 1/19, 1/21, 5/10, C07K  
14/435, 19/00, C12Q 1/02

(74) 代理人: 特許業務法人特許事務所サイクス (SIKS &  
CO.); 〒1040031 東京都中央区京橋一丁目 8 番 7 号  
京橋日殖ビル 8 階 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2004/015671

(22) 国際出願日: 2004 年 10 月 15 日 (15.10.2004)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願 2003-355192  
2003 年 10 月 15 日 (15.10.2003) JP

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が  
可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR,  
BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,  
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,  
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,  
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA,  
NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE,  
SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,  
UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可  
能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD,  
SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY,  
KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG,  
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE,  
IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF,  
BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN,  
TD, TG).

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 独立行政  
法人理化学研究所 (RIKEN) [JP/JP]; 〒3510198 埼玉県  
和光市広沢 2 番 1 号 Saitama (JP). 独立行政法人科学技  
術振興機構 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY  
AGENCY) [JP/JP]; 〒3320012 埼玉県川口市本町 4 丁  
目 1 番 8 号 Saitama (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 宮脇 敦史  
(MIYAWAKI, Atsushi) [JP/JP]; 〒3510198 埼玉県和  
光市広沢 2 番 1 号 独立行政法人理化学研究所内  
Saitama (JP). 永井 健治 (NAGAI, Takeharu) [JP/JP]; 〒  
1740063 東京都板橋区前野町 5-20-5 セザール  
常盤台 102 Tokyo (JP).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される  
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語  
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: FLUORESCENCE INDICATOR UTILIZING FRET

(54) 発明の名称: FRET を利用した蛍光指示薬

(57) Abstract: A novel fluorescence indicator for analyzing an intermolecular interaction or intramolecular structural change with the use of fluorescence resonance energy transfer (FRET). There is provided a fluorescence indicator having such a structure that a donor fluorescent protein and an acceptor fluorescent protein are linked to both ends of a target sequence for analyte wherein the three-dimensional structure of the indicator is changed by analyte linking to the target sequence or action on the target sequence to thereby induce fluorescence resonance energy transfer (FRET), characterized in that the donor fluorescent protein and/or acceptor fluorescent protein is a circular permutation variant fluorescent protein obtained by interchanging between N-terminus side amino acid sequence and C-terminus side amino acid sequence of wild type fluorescent protein or its variant protein and is a fluorescent protein having substantially the same fluorescence peak wavelength as that of the fluorescent protein before being subjected to the circular permutation variation.

(57) 要約: 本発明の目的は、蛍光共鳴エネルギー転送 (FRET) を利用した分子間相互作用又は分子内構造変化を分析するための新規な蛍光指示薬を提供することである。本発明によれば、分析物質の標的配列の両端にドナー蛍光蛋白質とアクセプター蛍光蛋白質が結合している構造を有し、分析物質が該標的配列に結合又は作用することにより指示薬の立体構造が変化して蛍光共鳴エネルギー転送 (FRET) が生じる蛍光指示薬において、上記ドナー蛍光蛋白質及び/又は上記アクセプター蛍光蛋白質が、野生型蛍光蛋白質又はその変異体蛋白質の N 末端側のアミノ酸配列と C 末端側のアミノ酸配列を入れ替えることにより得られる円順列変異蛍光蛋白質であって、当該円順列変異を施す前の蛍光蛋白質と実質的に同一の蛍光ピーク波長を有する蛍光蛋白質であることを特徴とする蛍光指示薬が提供される。

WO 2005/036178 A1